Aula 9 Testes rápidos para sífilis

Pela simplicidade de execução, facilidade e rapidez na leitura e desempenho equivalente aos testes laboratoriais, os testes rápidos para sífilis fazem parte das estratégias do Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais para ampliar a cobertura diagnóstica desse agravo.

Testes rápidos (TR)

Testes rápidos são todos aqueles em que se faz a execução, leitura e interpretação do resultado em, no máximo, 30 minutos, sem a necessidade de estrutura laboratorial.
A leitura dos resultados pode ser feita a olho nu.

Dependendo do fabricante, os testes rápidos para diagnóstico da sífilis podem ser feitos com amostras de sangue total, soro ou plasma.

Desde os anos 2000 os testes rápidos treponêmicos tornaram-se disponíveis no mercado brasileiro e passaram a apresentar valores de sensibilidade e de especificidade adequados ao diagnóstico laboratorial da sífilis.

A seguir estão listadas situações e locais em que se indica a utilização dos testes rápidos.

- Rede de serviços de saúde sem infraestrutura laboratorial ou localizados em regiões dedifícil acesso.
- Programas do Ministério da Saúde (MS), como o Rede Cegonha, o Programa de Saúde da Família, o Consultório na Rua e o Quero Fazer, dentre outros.
- Centro de Testagem e Aconselhamento (CTA) e Unidade de Testagem Móvel (UTM).
- Segmentos populacionais flutuantes.
- Laboratórios que realizam pequenas rotinas (rotinas com até cinco amostras diárias para diagnóstico.
- Prontos-socorros.
- Maternidades.
- Segmentos populacionais mais vulneráveis.

- Parcerias sexuais.
- Gestantes que não tenham sido testadas durante o pré-natal ou cuja idade gestacional não assegure o recebimento do resultado do teste antes do parto.
- Parturientes e puérperas que não tenham sido testadas no pré-natal ou quando não é conhecido o resultado do teste no momento do parto.
- Abortamento espontâneo, independentemente da idade gestacional.
- Pessoas em situação de violência sexual.

Acesse o site do TELELAB para acompanhar a legislação vigente para a utilização dos testes rápidos: **www.telelab.aids.gov.br**.

Princípios metodológicos dos testes rápidos para diagnóstico da sífilis

Os testes rápidos comercializados no Brasil, e registrados na ANVISA, utilizam os princípios metodológicos de imunocromatografia de fluxo lateral e de imunocromatografia em plataforma de duplo percurso – **DPP** (do inglês *Dual Path Platform*).

Dentro de um mesmo princípio metodológico pode haver variações, com os resultados sendo visualizados na forma de um ponto ou de uma linha.

Imunocromatografia de fluxo lateral

Como exemplo, veja na Figura 1 como funciona um teste rápido de fluxo lateral, com o resultado em linha.

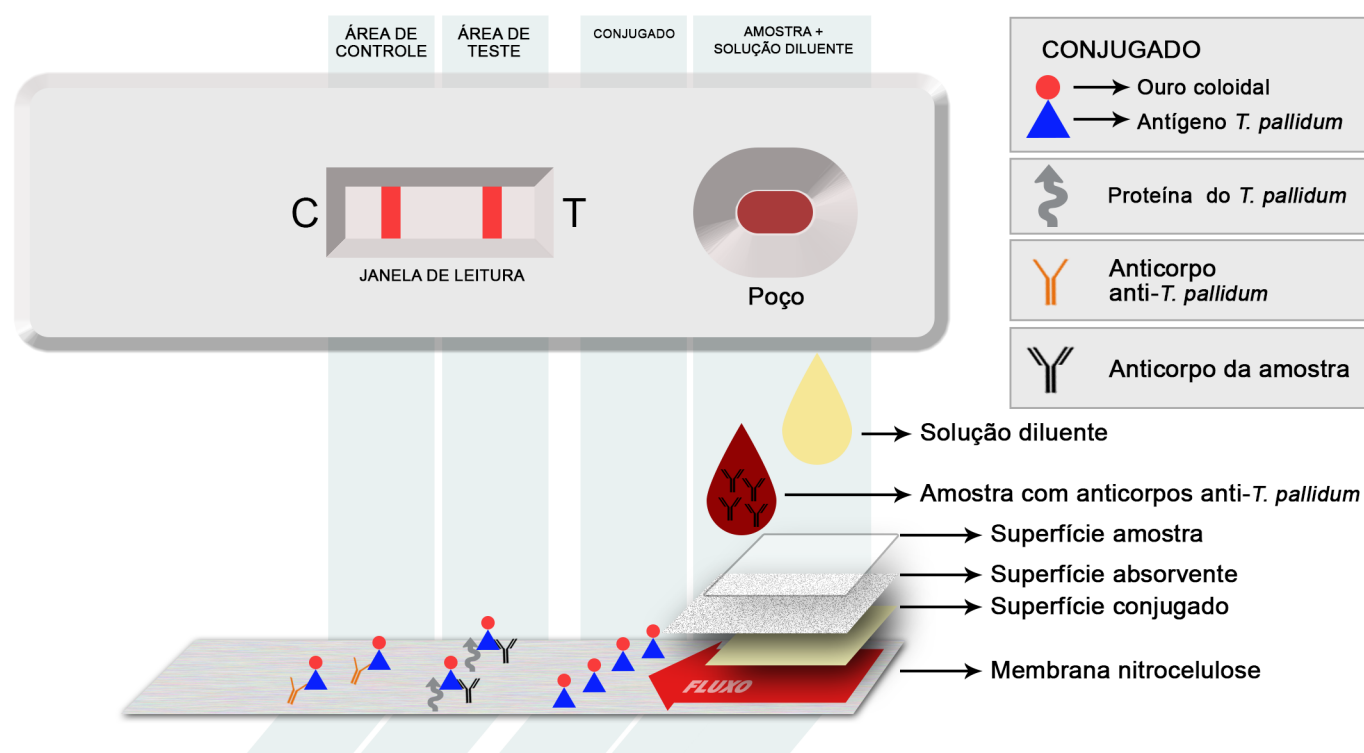



Figura 1 - Funcionamento de um teste rápido de fluxo lateral

1. A fase sólida é uma tira de nitrocelulose que contém:

- um local para colocar a amostra e a solução tampão, denominado **poço**;
- uma área intermediária contendo conjugado composto de antígenos recombinantes de *Treponema pallidum* ligados ao corante selenium coloidal;
- outra área que contém antígenos de treponema imobilizados, para leitura do resultado, denominada **área T**;
- uma quarta área que contém um conjugado de anti-imunoglobulina (IgG) e ouro coloidal – ou de antiproteína A recombinante e ouro coloidal – para controle da reação e para validação do teste, denominada **área C**.

3.A amostra é colocada no **poço** e, em seguida, é adicionada a solução tampão.

4.Os anticorpos da amostra fluem lateralmente pela fita de teste e ligam-se ao conjugado. Os anticorpos ligados ao conjugado continuam fluindo pela fita até a **área T** e ligam-se aos antígenos imobilizados, resultando no aparecimento de uma linha colorida.

5.O fluxo continua, e frações do conjugado que não se ligaram na **área T** vão ser revelados na **área C**, produzindo uma linha vermelha. Essa linha é o controle da reação. Ela sempre deve estar presente, e indica que houve perfeita migração da amostra na tira de reação.v

Leitura do teste rápido para sífilis com metodologia de fluxo lateral

Ao realizar a leitura do teste, observe se ocorreu a formação de uma linha colorida na área C. A presença dessa linha valida o teste e indica que não houve problema com a reação.
Em seguida, leia o resultado da amostra observando se ocorreu ou não a formação de uma linha colorida na área T. Os resultados possíveis são estes:

Reagente – quando há formação de uma linha colorida na área T e outra na área C. Um resultado reagente indica que há anticorpos antitreponema detectáveis na amostra do indivíduo (Figura 2);

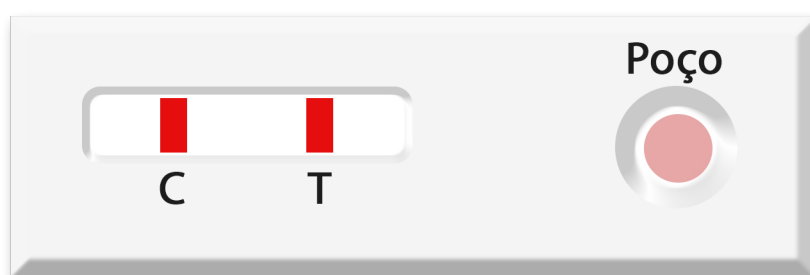



Figura 2 - Teste rápido de fluxo lateral reagente

Não reagente – quando há formação de linha colorida apenas na área C. Um resultado não reagente indica que não há anticorpos antitreponema detectáveis na amostra do indivíduo (Figura 3);

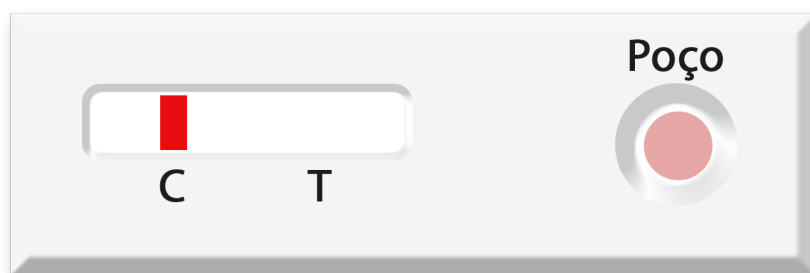
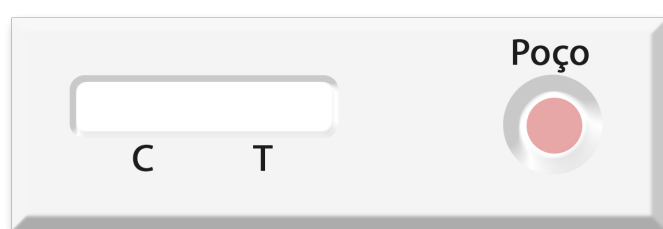
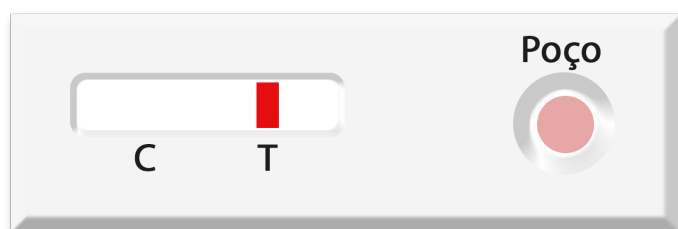



Figura 3 - Teste rápido de fluxo lateral não reagente

Teste Inválido – se não houver formação de linha colorida na área C, o teste será considerado inválido, independentemente do resultado obtido na área T. Neste caso, o teste deverá ser repetido (Figuras 4 e 5).

Figuras 4 e 5 - Testes rápidos de fluxo lateral inválidos

Veja a seguir como proceder se o resultado do teste for inválido.

1. Repita o teste. Caso o resultado continue inválido, faça o teste com um *kit* de outro lote ou de outra marca.

2. Você também pode considerar que:

    a) amostras coaguladas ou lipêmicas podem interferir nos resultados;

    b) os volumes da amostra e do tampão talvez estivessem incorretos;

    c) os tempos de todas as etapas podem não ter sido rigorosamente respeitados.

3. Verifique as condições de estocagem do *kit* e o prazo de validade.

4. Informe prontamente ao fornecedor caso haja persistência de resultados inválidos, pois isso sugere que existem problemas no *kit*.

5. Faça um teste treponêmico, como o FTA-abs, a hemaglutinação ou o imunoenzimático.

- Não utilize *kits* com prazo de validade vencido.
- Não utilizar após a data de validade. O prazo de validade do *kit* é indicado na parte externa de sua embalagem
- Utilize os volumes corretos da amostra e dos outros reagentes.
- Não misture componentes provenientes de *kits* ou caixas de lotes diferentes.

Imunocromatografia em plataforma de duplo percurso – DPP

Observe na Figura 6 um exemplo de teste rápido DPP (imunocromatografia em plataforma de duplo percurso).

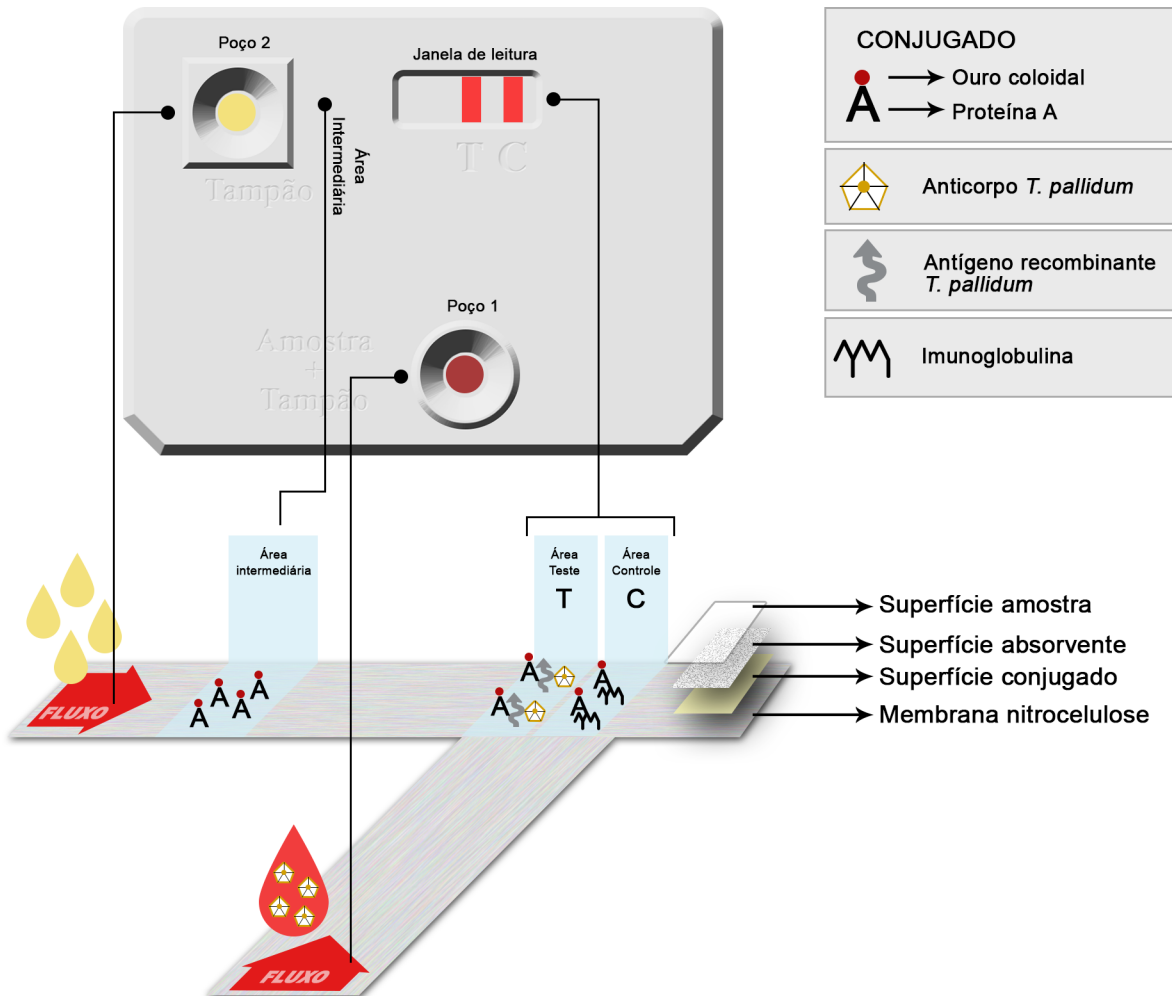



Figura 6 - Funcionamento de um teste rápido de duplo percurso

1. A fase sólida é constituída de duas tiras de nitrocelulose.
2. Por isso o dispositivo do teste contém:

   a) um local onde são colocadas a amostra e a solução tampão, denominado **Poço 1**, que permite a migração dos anticorpos presentes na amostra;

   b) uma área para colocar o tampão, denominado **Poço 2**, que tem por objetivo liberar o conjugado (anticorpos antitreponema ligados a partículas de ouro coloidal) que está imobilizado na membrana;

   c) uma terceira região, denominada **janela de leitura**, onde estão imobilizados os antígenos recombinantes de *Treponema pallidum* (T) para a reação específica e imunoglobulinas G (C) para controle da reação e validação do testes.

3. A amostra é colocada no Poço 1 e, em seguida, é adicionada a solução tampão.

4. Quando os anticorpos antitreponema estão presentes na amostra, fluem pela fita e ligam-se aos antígenos imobilizados na área de leitura do teste. Outros anticorpos presentes na amostra podem se ligar à área C.

5. Em seguida é adicionado um tampão ao Poço 2. A migração do tampão libera o conjugado imobilizado, que se liga aos anticorpos específicos antitreponema (área T) e aos demais anticorpos (área C).

Leitura do teste rápido para sífilis com metodologia DPP

Faça a leitura de acordo com o modo proposto a seguir.

Observe se houve a formação de uma linha colorida na área C. A presença dessa linha valida o teste e indica que não houve problema com a reação. Em seguida, faça a leitura do resultado da amostra observando se houve ou não a formação de uma linha colorida na área T.

Os resultados possíveis são estes:

Reagente – quando ocorre formação de duas linhas coloridas, uma na área de **controle (C)** e outra na área de **teste (T)** (Figura 7);

Figura 7 - Teste rápido DPP reagente

Não reagente – quando ocorre formação de somente uma linha colorida, a da área de **controle (C)** (Figura 8);

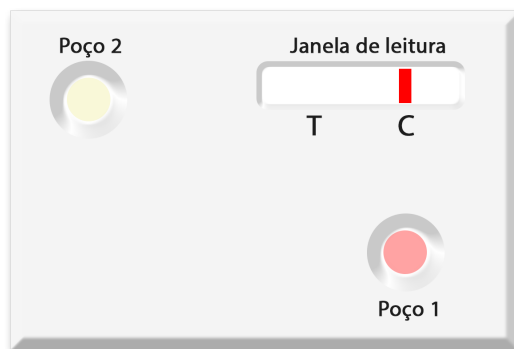



Figura 8 - Teste rápido DPP não reagente

Teste inválido – quando não ocorre formação de linha colorida na área de **controle (C)** (Figuras 9 e 10).

Figuras 9 e 10 - Testes rápidos DPP inválidos

Acompanhe adiante o passo a passo de um teste rápido para sífilis com metodologia DPP.

Procedimento detalhado para coleta da amostra e execução do Teste Rápido DPP® Sífilis Bio-Manguinhos

1

Separe os componentes necessários do *kit* Teste Rápido DPP® Sífilis Bio-Manguinhos e coloque-os sobre uma superfície plana. Para cada amostra coletada são necessários o tampão de corrida, 1 (uma) lanceta descartável, 1 (uma) alça coletora descartável, 1 (um) curativo adesivo, 1 (um) frasco para eluição e 1 (um) suporte de teste DPP® Sífilis embalado individualmente.

2

Retire o suporte de teste do envelope laminado, identifique-o com o nome do indivíduo ou o número de identificação e lote do *kit*.

3

Verifique a integridade de todos os componentes e a existência de 2 (duas) linhas na janela de teste do suporte, sendo uma de cor azul (linha Teste) e outra de cor verde (linha Controle). Se a duas linhas estiverem presentes, o dispositivo estará adequado para uso. Caso uma ou ambas as linhas esteja(m) ausente(s), não utilize o dispositivo, e comunique o ocorrido ao SAC de Bio-Manguinhos (telefone: 0800 210 310, ou e-mail: sac.reativos@bio.fiocruz.br).

4

Antes de coletar a amostra de sangue, identifique o frasco para eluição com o nome do indivíduo ou o número de identificação e desenrosque o dosador (parte branca) do frasco, mantendo a tampa preta rosqueada no dosador.

5

Colete a amostra por punção digital:

a) Perfure a lateral da polpa do dedo com a lanceta fornecida no *kit*;

b) encoste a alça coletora na gota de sangue que brotou no dedo, permitindo que a alça seja preenchida.

6

Insira a alça coletora com a amostra no frasco de eluição de modo que a alça toque no fundo do frasco. Coloque a alça com a amostra dentro do frasco, quebrando a alça coletora na região marcada.

7

Recoloque o dosador no frasco de eluição certificando-se de que tanto o dosador quanto a tampa preta estejam bem fechados. Homogeneíze gentilmente o frasco fazendo movimentos circulares sobre uma superfície plana por 10 segundos.

8

Retire somente a tampa preta do dosador e, com o frasco na posição vertical, adicione 2 (duas) gotas da solução ao poço 1.

9 Marque 5 (cinco) minutos no cronômetro ou relógio. Após esse tempo, a linha azul (Teste) e a linha verde (Controle) devem desaparecer da janela de leitura.

Se as linhas não desaparecerem, descarte o suporte de teste e repita o procedimento desde o início, usando um novo suporte de teste.

10 Adicione 4 (quatro) gotas do tampão de corrida ao poço 2, mantendo o frasco na posição vertical.

11 Marque 10 (dez) minutos no cronômetro ou relógio. Após 3 (três) minutos, verifique se ocorreu migração do tampão de corrida na janela de leitura.

Caso não haja migração, descarte o teste e repita o procedimento desde o início, usando um novo suporte de teste.

12 Após os 10 (dez) minutos de corrida do tampão, realize a leitura do teste. Esse tempo não pode exceder 15 (quinze) minutos.

a) Verifique o aparecimento de uma linha rosa/roxa na área da linha Controle. Caso ela não seja visualizada, invalide o teste e repita o procedimento desde o início, usando um novo suporte de teste.

b) Se a linha Controle for visualizada, observe a ausência ou o aparecimento de uma linha rosa/roxa na área da linha Teste. A ausência dessa linha indica um resultado não reagente, e o aparecimento da linha indica um resultado reagente.

13 Após a leitura do teste, anote o resultado.

Trate todas as amostras como material potencialmente infectante. Portanto, as normas universais de biossegurança devem ser adotadas, incluindo-se o uso de equipamentos de proteção individual (jaleco, óculos ou protetor facial e luvas).

A escolha do teste rápido

Antes de decidir, faça contato com vários fabricantes de testes que tenham produtos registrados na ANVISA e solicite a bula de cada produto.

Esses testes estão comercialmente disponíveis em variados formatos, para analisar amostras de sangue total, de plasma e de soro.

Portanto, verifique quais são os tipos de amostras definidos pelo fabricante do conjunto diagnóstico que você pretende utilizar. O Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais fornece os testes rápidos para a Rede de Serviços Públicos Brasileira.

Acesse o site do **TELELAB** para saber quais *kits* estão registrados na ANVISA: **www.telelab.aids.gov.br**.

Para realizar a escolha, considere também:

- qual amostra pode ser utilizada no teste e se sua estrutura de coleta é adequada;
- a quantidade diária de testes que você irá realizar;
- as condições existentes para estocar as amostras coletadas por punção venosa – caso você pretenda utilizar esse tipo de amostra;
- local adequado e pessoal treinado para coletar a amostra.

As amostras obtidas por punção digital podem ser colhidas em qualquer local, desde que sejam respeitadas as normas de biossegurança: uso de EPI, antissepsia das mãos e do local da punção, entre outros.

Referências

BENZAKEN, A. S.; BAZZO, M. L.; GALBAN, E.; PINTO, I. C. P.; NOGUEIRA, C. L.; GOLFETTO, L.; BENZAKEN, N. S.; SOLLIS, K. A.; MABEY, D.; PEELING, R. W. External quality assurance with dried tube specimens (DTS) for point-of-care syphilis and HIV tests: experience in an indigenous populations screening programme in the Brazilian Amazon. Sexually Transmitted Infections (Print), v. 00, p. 1-5, 2013.

BioManguinhos/FIOCRUZ – Instruções de Uso testes rápidos para sífilis -DPP TR.